Aus der Hals-Nasen-Ohrenklinik
der Universität Düsseldorf
(Direktor: Professor Dr. med. A. Meyer zum Gottesberge)

Die Haarzellschädigung des Corti-Organs durch lokale Anwendung von Neomycin beim Meerschweinchen

Dissertation
zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin

Der Medizinischen Fakultät der Universität Düsseldorf
vorgelegt von
Hermann-Josef Verfürth

1978

1976

Triltsch Druck und Verlag Düsseldorf

Aus der Hals-Nasen-Ohrenklinik
der Universität Düsseldorf
(Direktor: Professor Dr. med. A. Meyer zum Gottesberge)

Die Haarzellschädigung des Corti-Organs durch lokale Anwendung von Neomycin beim Meerschweinchen

D i s s e r t a t i o n
zur Erlangung des Grades
eines Doktors der Medizin

Der Medizinischen Fakultät der Universität Düsseldorf
vorgelegt von

Hermann-Josef Verfürth

1976

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität Düsseldorf

Der Dekan:
gez.: Prof. Dr. Schadewaldt

I. Berichterstatter:
gez.: Priv.-Doz. Dr. Quante

II. Berichterstatter:
gez.: Prof. Dr. Goslar

Meinen Eltern

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41544318_0039

Inhaltsverzeichnis

1. Einleitung und Fragestellung
2. Normale Anatomie und Histologie des Innenohres
3. Chemie und klinische Anwendung von Neomycin
   3.1. Klinische und experimentelle Befunde zur Haarzellschädigung nach Neomycin
   3.2. Morphologie und Pharmakokinetik der Haarzellschädigung
4. Eigene Untersuchungen
   4.1. Operationstechnik
   4.2. Versuchsanordnung
   4.3. Fixations- und Präparationstechnik
   4.4. Cochleographische Auswertung
5. Ergebnisse
6. Diskussion
7. Zusammenfassung
8. Literatur
9. Anhang
   9.1. Lebenslauf

1. Einleitung

Auf der Suche nach einem Medikament zur Behandlung der gegen Streptomycin schnell resistent werdenden Tuberkelbakterien gelang es im Jahre 1949 WAKSMAN und LECHEVALIER, Neomycin aus Streptomyces fradiae zu isolieren.

Mit dem Neomycin war eine Substanz entdeckt, die sich hervorragend auch zur Bekämpfung gramnegativer Keime, insbesondere des Pyoceaneus und anderer Problemkeime eignete. Doch schon bald fand man bei tierexperimentellen Versuchen erste Zeichen stark toxischer Nebenwirkungen an Ohr und Niere. Auch Beobachtungen über eine Toxizität beim Menschen wurden gemacht und in den letzten Jahren von zahlreichen Autoren beschrieben.

Bei der Therapie sind wir daher gezwungen, zwischen der Notwendigkeit der Anwendung des Neomycins bei gegeben starker Infektion, der optimalen Wirkung des Antibiotikums und dem Risiko der toxischen Nebenwirkungen zu entscheiden.

In der Hals-Nasen-Ohrenklinik Düsseldorf erwies sich bei der Nachbehandlung operierter Ohren eine Salbenstreifenbehandlung mit Neomycin und Cortison über Wochen als äußerst günstig und erzielte auch bei schweren entzündlichen Prozessen eine schnelle Abheilung.

Bei der Applikationsform des Neomycin in Salbengrundlage

im Bereich des Ohres sind in der Klinik bisher nie Störungen der Innenohrhörfunktion bemerkt worden. In wässriger Lösung als Ohrentropfen vermag Neomycin jedoch auch beim Menschen Schäden am Innenohr zu setzen. Diese sind in Einzelfällen beobachtet worden.

Während die Ototoxizität des Neomycins auch nach parenteraler Applikation häufig beschrieben wurde, sollte es die Aufgabe dieser Arbeit sein, tierexperimentell zu prüfen, in wieweit eine unterschiedliche Schädigung der Haarzellen des Corti-Organes auftritt bei lokal im Mittelohr angewandtem Neomycin auf Salbengrundlage und lokal im Mittelohr applizierter Neomycinlösung.

2. Normale Anatomie und Histologie des Innenohres

Zum besseren Verständnis der pathologischen Veränderungen am Innenohr nach Neomycinapplikation sei zuvor kurz auf die normale Anatomie und Histologie des Innenohres eingegangen (RAUCH 1964, BARGMANN 1967, LEONHARDT 1973, WALDEYER 1970, WALLRAFF 1967, FENEIS 1970).

Äußeres Ohr, Mittelohr und das die beiden trennende Trommelfell sind Hilfsapparate für das Hören und werden als Schallleitungsapparat dem Schallaufnahmeapparat, der im Innenohr liegt, gegenübergestellt.

In der Felsenbeinpyramide liegt das Innenohr, eine Kapsel

aus festem Knochen, die ein System komplizierter Hohlräume umschließt, knöchernes Labyrinth genannt. In ihm eingeschlossen ist das häutige Labyrinth, das mit Endolymphe gefüllt und der eigentliche Träger der Sinnesepithelien für das Hörorgan einerseits und das Gleichgewichtsorgan andererseits ist. Zwischen häutigem Labyrinth und knöcherner Kapsel finden sich mit Perilymphe gefüllte Hohlräume, über die die Schallwellen vom Schalleitungsapparat auf das Sinnesepithel (Corti-Organ) übertragen werden. Über die verschiedenen Lymphen des Innenohres, die die Sinneszellen umgeben, erfolgt auch die Ernährung und Versorgung der Haarzellen mit Sauerstoff und Nährstoffen.

Die Schnecke, die beim Menschen aus 2 1/2 Windungen besteht (3 1/2 beim Meerschweinchen), bildet mit einem basalen, einem mittleren und einem apikalen Abschnitt das eigentlich Hörorgan. In ihr liegt der dreieckige, mit Endolymphe gefüllte Ductus cochlearis. Seine Abgrenzung zur Scala vestibuli stellt die Reissner'sche Membran dar, zur Scala tympani der Limbus spiralis und die Basilarmembran, auf der das Corti'sche Organ liegt. Die laterale Wand des Ductus cochlearis besteht aus dem Ligamentum spirale cochleae, auf dem sich die gefäßreiche Stria vascularis befindet (s. Abb.1).

Das Epithel des Corti'schen Organs setzt sich zusammen aus den eigentlichen Sinneszellen, den Stützzellen mit fibrillären Strukturen (Pfeilerzellen, Deiter'sche Zellen) und den wenig differenzierten Stützzellen (innere Stützzellen, Hense'sche und Claudius'sche Zellen).

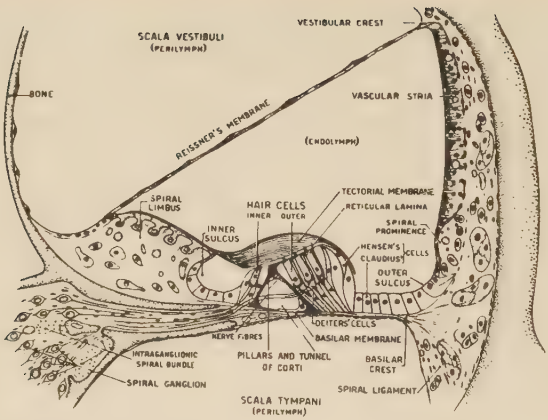

Abb. 1: Schematische Darstellung des Ductus cochlearis (IURATO "Submicroscopic structure of the Inner Ear", Pergamon Verlag, 1967)

Die Sinneszellen werden noch einmal unterteilt in die inneren Haarzellen, die in einer Reihe als prismatische, hexagonale Zellen aufgereiht liegen und in die äußeren zylindrischen Haarzellen, die in 3 bis 4 Reihen lateral vom Nuel'schen Raum angelegt sind.

Die wesentlichsten Bestandteile der Sinneszellen sind die apikale Zone mit einer homogenen Cuticula, in welche die in die Endolymphe hineinragenden Sinneshaare eingebettet sind, die intermediäre Zone mit Ergastoplasma und vielen Mitochondrien, sowie die Nervenendigungen, die die peripheren Fortsätze des Ganglion spirale darstellen. Die zentralen Fortsätze schließen sich in der Schneckenspirale zum Nervus cochlearis zusammen (s. Abb. 2).

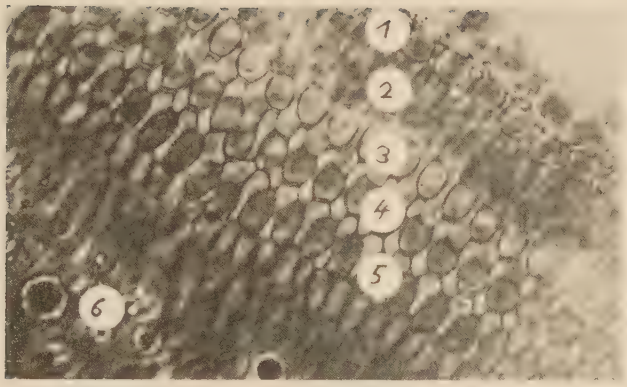

Abb. 2: Häutchenpräparat der 2. Windung (Meerschweinchenpräparat Ausschnitt). Die Haarzellen sind unbeschädigt.
1 Innere Haarzellen
2 Enden der inneren und äußeren Pfeilerzellen
3 Äußere Haarzellen 1. Reihe
4 Äußere Haarzellen 2. Reihe
5 Äußere Haarzellen 3. Reihe
6 Hensen'sche Zellen mit osmiophilen Fettropfen (schwarz tingiert)

3. Chemie und klinische Anwendung von Neomycin

A. Die erstmals von WAKSMAN und LECHEVALIER (1949) aus Kulturfiltraten des Streptomyces fradiae isolierte Substanz Neomycin besteht aus einem Dreikomponentengemisch: Neomycin A, B und C. Der wirksamste und Hauptbestandteil des Gesamtkomplexes ist das Neomycin B, Framycetin.

Es handelt sich hierbei um eine farblose, hygroskopische und lichtempfindliche Substanz mit basischem Charakter. Die Summenformel lautet: $C_{22}\ H_{58}\ O_{16}\ N_8$.

Neomycin und Neomycin B sind als Sulfate handelsüblich und zählen mit Kanamycin, Streptomycin, Dihydrostreptomycin und Paromomycin zu den Aminoglycosidantibiotika.

Das Molekulargewicht der Base liegt bei etwa 774,8, das des Sulfats bei 1167,2.

Neomycin weist folgende Strukturformel auf:

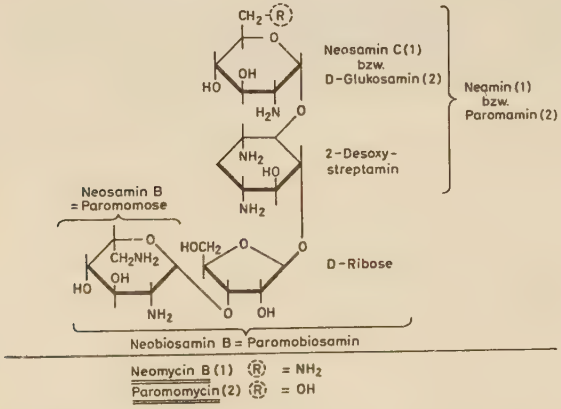

Abb. 3: Aus "Antibiotika-Fibel WALTER und HEILMEYER" (1965), 349

B. Isoliert aus Streptomyces fradiae war Neomycin zunächst zur Unterstützung des bewährten Streptomycins als Tuberculostaticum gedacht und erwies sich auch in geringem Maße erfolgreich als Mittel zur Behandlung von tuberkulösen Infekten. Doch bald zeigte sich auch seine Wirksamkeit gegen andere gramnegative und grampositive Stäbchen wie zum Beispiel gegen die Koli- und Proteus-Bakterien und seine etwas mäßigere Wirkung gegen Kokken.

Mit Aufdeckung der toxischen Nebenwirkungen auf Ohr und Niere wurde jedoch schon kurz nach seiner Entdeckung die Anwendung von Neomycin stark eingeschränkt. Stets war bei einer Behandlung mit Neomycin zu entscheiden, in wieweit man bei starken Infektionen eine toxische Nebenwirkung in Kauf nehmen durfte oder mußte.

Heute beschränkt sich deshalb die Anwendung von Neomycin im wesentlichen auf eine lokale und oberflächliche Behandlung. DILLMANN und REILING (1970/71) berichten über die lokale Antibiotikatherapie und die Verwendung von Nebacetin^{R} in der praktischen Chirurgie. Als Applikationsformen sind hier Salbe, Augensalbe, Puder, Spray und Wund-Tüll im Handel (Sofra-Tüll, Bycomycin und in Kombination mit Bacitracin als Nebacetin). Voraussetzung für eine lokale Behandlung mit Nebacetin ist jedoch, daß keine großflächige Wunde besteht, die eine gesteigerte Resorption erlaubt und wieder zu nephro- und ototoxischen Nebenwirkungen führen kann.

Durch einzelne Fallberichte über Taubheit auch nach oraler Neomycin-Einnahme ist die orale Applikation von Neomycin begrenzt auf die Behandlung massiver Infektionen bei nicht invasiver Enteritis durch Echerichia coli und Shigellen. MÜTING (1971) und GRIWOTTA et al. (1974) schreiben über die erfolgreiche Wirkung des Neomycins bei portaler Encephalopathie. Bei portaler Encephalopathie (neurologisch-psychiatrisches Syndrom bei Pfortaderhochdruck oder portocavaler

Shuntoperation) setzt Neomycin durch Reduktion der Darmflora die Bildung toxischer Eiweißmetabolite herab und führt zu einem Rückgang der Hyperammoniaemie. Die Patienten erhalten hier eine orale Dosis von 6 bis 8 g Neomycin täglich bei ständiger Überwachung der Ohr- und Nierenfunktion.

Die für die Fragestellung in dieser Arbeit wichtigste Anwendung ist jedoch der lokale Gebrauch von Neomycin im Bereich des Ohres. In der hiesigen Klinik werden Ohroperierte routinemäßig und Patienten mit eitrig infizierten, laufenden Ohren im besonderen mit Salbenstreifen folgender Zusammensetzung behandelt:

Triamcinolon Salbe	0,1
mit Neomycinsulfat	0,38 %
Gramicidin	0,025 %
in Vaselin-Salbengrundlage	

Die Patienten erhalten nach dem operativen Eingriff zunächst für 3 Wochen eine Mittelohr- und Gehörgangs-Tamponade bestehend aus Gelatine und Antibiotika (Tetracyclin oder halbsynthetisches Penicillin). Nach dem Entfernen dieser Tamponade werden die Gehörgänge und eventuell Radikalhöhlen für mehrere Wochen mit einem Salbenstreifen behandelt, der Neomycin enthält. Der Wechsel des Salbenstreifens erfolgt alle 1 - 2 Wochen. Die Nachbehandlung dauert insgesamt etwa 6 Wochen und endet mit dem Abklingen der Infektion bei trockenem Ohr.

Wie eine Statistik unserer Klinik zeigt (STRAUSS 1975) ließen sich durch diese Behandlung bei 91,2 % der behandelten Patienten mit bis zu 5maligem Wechseln der Salbenstreifen völlige Abheilung der Infekte erzielen. 7 % der operierten Ohren war nach 10maliger, 1,4 % nach 15maliger und 0,4 % nach mehr als 15maliger Behandlung mit Salbenstreifen abgeheilt.

Salbenstreifen mit anderen Antibiotica erreichten diese Erfolgsquote nicht. Eine regelmäßige Untersuchung der Hörfunktion durch Audiogramme zeigte auch bei langdauernder Anwendung neomycinhaltiger Salben in Radikalhöhlen keine Innenohrschädigung.

3.1. Klinische und experimentelle Befunde zur Haarzellschädigung nach Neomycin

Durch zahlreiche klinische Befunde und tierexperimentelle Untersuchungen ist bis heute die ototoxische und nephrotoxische Wirkung der Aminoglycosidantibiotika belegt und von vielen Autoren beschrieben worden. Da Neomycin die von uns gewählte Substanz bei den Tierversuchen ist und es die anderen Antibiotika der Gruppe hinreichend repräsentiert, wollen wir uns in den folgenden Ausführungen überwiegend auf Neomycin beschränken.

Nach den schlechten Erfahrungen mit Streptomycin und Dihydrostreptomycin überraschte es anfangs nicht, als bald nach

der Entdeckung des Neomycins wissenschaftliche Publikationen über eine Nephro- und Ototoxizität erschienen. Die ersten klinischen Beobachtungen über Hörschäden durch Neomycin stammen von CARR und Mitarbeitern (1950/1951) wie auch von WAISBREN und SPINK (1950).

Während nach MÜCKTER (1962) das Streptomycin vor allem das Vestibularsystem (10 - 30 %) und nur in 2 - 3 % den cochleären Apparat schädigt, stehen beim Neomycin, ähnlich wie beim Kanamycin, das dem Neomycin sowohl in chemischer Hinsicht als auch in seinem antibiotischen Wirkungsspektrum gleicht, Nieren- und Hörschädigung, die zuerst die hohen Frequenzen betreffen und erst Tage und Wochen nach einer Behandlung auftreten sollen, im Vordergrund der Nebenwirkungen.

Hierüber berichten nahezu übereinstimmend LEARCH (1962), GREENWOOD (1959) sowie GOLDNER (1958), KÖRTGE-STÖPPLER und MITTAG (1958). Sie fanden schon Hörschäden bei einer parenteralen Dosis von 10 g Neomycin innerhalb einer Woche. KACKER (1970) stellte im Tierexperiment als adäquate Dosis zur Schädigung der Haarzellen eine Gabe von 200 mg/kg Körpergewicht Neomycin täglich über 6 Tage fest. WAISBREN und SPINK (1950) fiel auf, daß bei allen Patienten, die unter einer Neomycinbehandlung einen Hörverlust erlitten hatten, stets irgendeine Nierenerkrankung vorlag. Weitere Schädigungen der Nieren durch Neomycin wurden von POWELL et al. (1956) und von RUBEN et al. (1968) beschrieben.

Erste histologische Befunde fanden LINDSAY et al. (1960), die die Felsenbeine eines an Endocarditis verstorbenen Patienten untersuchten, der mit 18 g Neomycin behandelt worden war. Sie entdeckten ausgedehnte Zerstörungen bzw. ein vollständiges Verschwinden der Haarzellen, während das vestibuläre Sinnesepithel und die Stria vascularis keine Veränderungen zeigten.

Ein Vergleich experimentell erzeugter Neomycinschädigungen am Innenohr des Meerschweinchens führten die Untersucher zu der Feststellung, daß kein prinzipieller Unterschied zwischen der Histo-Pathologie der menschlichen Ototoxikosen und der tierexperimentellen Innenohrintoxikation besteht.

Erste tierexperimentelle Untersuchungen in dieser Richtung wurden von RÜEDI, GRAF und TSCHIRREN (1953) und OWADA (1962) durchgeführt. Die Schädigungen betrafen entsprechend dem besonders ausgeprägten Hörverlust in den hohen Frequenzen vor allem die Haarzellen der basalen Windungen und zwar meist die äußeren Haarzellen. Außerdem fanden RÜEDI et al. (1953), daß die Veränderungen nicht nur auf die Sinneszellen beschränkt sind, sondern auch die Stria vascularis betroffen ist.

Ein Vergleich der ototoxischen Wirkungen der einzelnen basischen Streptomyces-Antibiotika zeigte, daß Neomycin die weitaus stärksten ototoxischen Schädigungen hervorruft (HAWKINS 1952, COURVOISIER und LEAU 1956).

KÜPPER, STUPP et al. (1970) untersuchten die klinisch wichtigsten Antibiotika auf ihre Ototoxizität bei lokaler Anwendung und fanden, daß die stärkste Zerstörung der Haarzellen durch Neomycin hervorgerufen wird - schon bei einer 1/10 molaren Lösung lokal appliziert über 3 Tage.

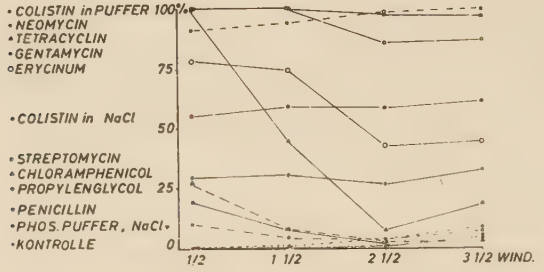

Abb. 4: Haarzellschäden in der Meerschweinchencochlea bei lokaler Antibiotikaapplikation.
(Aus KÜPPER, K., STUPP, H. et al., Arch.klin.exp. Ohr.-,Nas.- u. Kehlk .-Heilk., Bd. 196, Hft 2, 1970)

Zu gleichen Ergebnissen kamen RISKAER und Mitarbeiter (1956), die den toxischen Einfluß des Neomycins auf die Haarzellen, die Stria vascularis und die neuralen Elemente mit Streptomycin, Viomycin und Polymycin B verglichen. Neomycin erwies sich auch hier als stärkste toxische Substanz.

TYBERGHEIM (1962) untersuchte die verschiedenen Salze des Neomycins, seine Pantothenatkomplexe und seine Sulfatverbindungen. Er stellte auch hier schwerste Haarzellschädigungen durch Neomycin fest.

Doch nicht nur bei parenteraler Applikation erwies sich Neomycin als schädlich, sondern auch nach oraler und lokaler Anwendung. In neuerer Zeit berichten mehrere Autoren auch von Hörverlusten nach Behandlung mit Aerosolen.

Bei oraler Neomycinapplikation, die zunächst wegen mangelhafter Darmresorption ungefährlich erschien, konnten RUBEN und DALY (1968) eine akute Ertaubung feststellen. Die Ertaubung trat bei gestörter Nierenausscheidung 8 Tage nach einer oralen Gesamtdosis von 11 g auf, die innerhalb von 2 Tagen verabreicht worden war.

Von einem ähnlichen Fall nach oraler Applikation von Neomycin bei Leberkoma berichtet KALBIAN (1972). Über 13 Monate erhielt hier der Patient eine tägliche Dosis von 8 g Neomycin und ertaubte. Durch massive Gabe von Neomycin, schlechte Eliminierungsfähigkeit der Nieren oder defekte Darmschleimhaut erhöht sich der Blutspiegel und es besteht eine potentielle Ototoxizität. In dem beschriebenen Fall muß die Taubheit durch die verstärkte Gabe und dadurch erhöhten Blutspiegel bei normaler Nierenfunktion und intakter Schleimhaut hervorgerufen worden sein.

KUNIN et al. (1960) stellten in ihrer Arbeit fest, daß bei Patienten mit normaler Nierentätigkeit nach einer oralen Einzelgabe von 4 - 8 g Neomycin ein Blutspiegel von 2 - 9 µg/ml resultierte, im Gegensatz zu einem Spiegel von 20 µg/ml nach einer intramuskulären Injektion von 1 g Neomycin.

FIELDS berichtet 1964 über eine Taubheit nach präoperativer Darmspülung mit Neomycinlösung. Weiterhin beschreibt er eine Erkrankung bei 2 Kindern, die wegen einer Staphylokokkenpneumonie mit Neomycin-Aerosol behandelt wurden.

Ebenso sah auch HELM (1960) eine Ertaubung nach Anwendung von Neomycin-Spray bei bronchopleuraler Fistel und sekundär infizierten tuberkulösem Empyem.

Taubheit nach lokaler Applikation zeigen zwei weitere Fälle. QUANTE (1975) berichtet über eine Schwerhörigkeit nach dreimonatiger lokaler Wundbehandlung mit 10 %iger Neomycinsulfatlösung und KELLY et al. (1969) schreiben über einen Hörverlust nach topischer Behandlung einer Operationswunde bei einer Osteomyelitis mit einem Neomycin-Polymycin-Gemisch.

3.2. Morphologie und Pharmakokinetik der Haarzellschädigung

Erst in neuerer Zeit konnten durch Untersuchungen mit dem Phasenkontrastmikroskop und den Elektronenmikroskopen genaue Kenntnisse über die Wirkung der Aminoglycosidantibiotika auf das Corti-Organ gewonnen werden. Dabei stellten sich bestimmte Schädigungsmuster heraus (BECK und KRAHL 1962, KOHONEN und ENGSTRÖM 1965).

Als erste Zeichen einer toxischen Störung fanden sich Unregelmäßigkeiten an den Kernen der äußeren Haarzellen und

zwar in der ersten innersten Reihe der unteren Schneckenwindung. Diese Schädigung ging später auf die zweite und dritte Reihe der Haarzellen über. Ebenso sah auch MÜSEBECK (1962) regelmäßig, daß die erste Reihe der äußeren Haarzellen am empfindlichsten geschädigt wurde, die Störung in der zweiten und dritten Reihe dagegen deutlich geringer war, während die inneren Haarzellen relativ widerstandsfähig erschienen.

Für Kanamycin und Neomycin wiesen BECK, KRAHL (1962) und RÜEDI (1953) nach, daß nicht nur am Sinnesepithel, sondern auch an den Epithelzellen der Stria vascularis und den Deiter'schen Zellen Schädigungen auftreten. Hier fanden sich die stärksten Schäden in der oberflächlichen, dem Endolymphraum zugewandten Epithelschicht. Darüber hinaus fanden sie auch zentrale Veränderungen an den Ganglienzellen, vor allem im Kerngebiet. Doch nimmt das Ausmaß der Schädigung, wie sich histochemisch zeigen ließ, vom peripheren Sinnesapparat über die Kerngebiete hin zu den übergeordneten Hirnabschnitten deutlich ab.

FARKASHIDY (1963) und WERSÄLL et al. (1973) fiel bei ihrer Kombinationsuntersuchung mit Phasenkontrast-, Raster-, Elektronen- und Lichtmikroskop über Kanamycin- und Gentamycinintoxikation auf, daß die ersten Degenerationszeichen mit Verklumpung der Mitochondrien und des endoplasmatischen Reticulums stets im supranucleären, dem Endolymphraum zugekehrten Bereich der Zelle auftraten und in den äußeren Haarzellen der basalen Windungen beginnen und sich apikalwärts

fortsetzen.

Auffallend ist die große Ähnlichkeit der morphologischen Befunde, wenn man das Schädigungsbild nach Pharmaintoxikation mit dem nach Lärmeinwirkung vergleicht (QUANTE 1974).

Pharmakokinetik:

Die Ursache der Ototoxikose der Aminoglycosidantibiotika ist heute trotz zahlreicher Untersuchungen nicht sicher geklärt. In mehreren Arbeiten werden verschiedene Thesen vertreten.

Für das Verständnis des toxischen Wirkungsmechanismus ist die Frage des Schädigungsweges von grundlegender Bedeutung. Erfolgt nämlich die Schädigung vom Blut aus, so würde das bedeuten, daß die Tubulusepithelien und die Haarzellen im Vergleich mit anderen Zellen, die der gleichen Blutkonzentration ausgesetzt sind, besonders empfindlich sind. Für den Fall aber, daß die toxischen Substanzen unmittelbar vom Tubuluslumen oder vom Ductus cochlearis aus auf die Epithelien oder Haarzellen einwirken, müßte die Schädigung als Folge der hohen Antibiotikakonzentration im Harn und in der Endolymphe aufgefaßt werden.

Seit den Arbeiten ANDRE's (1956), der tritiummarkiertes Dihydrostreptomycin verwandte, gelang es, den genauen Ablauf der Verteilung dieser Substanzen in intra- und extrazellulären Räumen festzustellen. Danach wird das Antibiotikum zu 30 % an die Plasmaproteine gebunden und gelangt dann zu den Organen. Insbesondere konnte in den Tubuli contorti

der Nieren hohe Konzentrationen nachgewiesen werden. MASCITELLI-CORIANDOLI (1958/1959), LAGLER u.a. (1960), STAEMMLER und DUDCOVIAK (1961) konnten biochemisch und histologisch die Anreicherung der Antibiotika in den Epithelzellen der Tubuli bestätigen. Es wird angenommen, daß durch die Akkumulation in der Niere die Nephrotoxizität zu erklären ist.

Eine ähnliche Akkumulation der Antibiotika im Innenohr wurde für Neomycin von STUPP et al. (1965/1970) nachgewiesen bei den Untersuchungen über die Konzentration im Innenohr, im Blut und in anderen Organen. Es fand sich eine enorme Anreicherung des Neomycinspiegels in der Perilymphe, bzw. Endolymphe gegenüber dem Gehirn, eine Bestätigung für die elektrophysiologisch und morphologisch erweisene Tatsache, daß die Schädigung des Hörorgans primär in der Peripherie beginnt.

Als mögliche Ursache für die Anreicherung in der Innenohrflüssigkeit nahm RAUCH (1966) Schäden der Membranfunktion durch die Aminoglycosidantibiotika an, die eine Hemmung des Ionentransportes zur Folge hätten. Diese Annahme vertraten in ihren Untersuchungen auch WERSÄLL und FLOCK (1964).

Die Konzentrationen im Innenohr und in der Niere übertreffen alle anderen Organe und sogar den Blutspiegel um ein vielfaches. Bei Vergleichsuntersuchungen mit anderen Antibiotika dieser Gruppe, Streptomycin, Dihydrostreptomycin,Kanamycin, stellte sich heraus, daß je toxischer die Substanzen sind,

desto ausgeprägter auch ihre Kumulation in der Innenohrlymphe ist. Schon in niedriger, nicht toxischer Dosierung erreichen die Aminoglycosidantibiotika einen relativ hohen Innenohrspiegel. Die Ursache hierfür ist wahrscheinlich in einer erschwerten Elimination und Retention der praktisch nicht resorbierbaren Substanzen in den Innenohrräumen zu sehen.

Die hohe Antibiotikakonzentration in Innenohrflüssigkeit und Tubuluslumen unterstützt die Auffassung, daß die Schädigung nicht vom Blutweg aus die Zellen angreift, sondern von dem die Zellen umgebenden Raum eine schädigende Noxe auf die Zellen und Epithelien einwirkt. Beweisend hierfür mag auch angesehen werden, daß, wie erwähnt und früheren Untersuchern bereits aufgefallen, die dem Endolymphraum zugewandten Zellen am stärksten zerstört waren. Ebenso verhielt es sich bei den Nierenschädigungen, wo die oberflächlichen Tubulusepithelzellen vom Tubuluslumen aus geschädigt werden.

Um weitere Aufschlüsse über den Wirkungsmechanismus der ototoxischen Substanzen zu erhalten, bediente man sich histochemischer Untersuchungsmethoden. Den Energiestoffwechsel betreffend liegen interessante Bakterienuntersuchungen vor.

Nach Inkubation mit Streptomycin fand BRAGG (1962) eine Hemmung der Pyruvatdissimilation. ARTMANN et al. entdeckten 1955 eine Hemmung der Sulfhydrase bei Escherichia coli, GILLISSEN (1958) eine Herabsetzung der alkalischen

und sauren Phosphatasen bei Staphylokokken . HANCOCK (1961) schließlich untersuchte die Fähigkeit von Bakterien, nach Streptomycineinwirkung verschiedene Substanzen zu oxydieren, und wies dabei ein Absinken der Oxydationsfähigkeit auf 60 - 20 % nach.Andere Autoren versuchten das Problem mit tierischen Zellfraktionen zu ergründen. Es wurde eine Hemmung der Phosphorilation (KLINOV 1959) einerseits und andererseits eine Störung der Succinodehydrogenase und der Zytochromoxidaseaktivität (ARORA 1955) festgestellt, was wiederum auf eine Hemmung der Atmung hindeutet. Diese Untersuchungen wurden nach Neomycingaben an Herzhomogenaten von Tauben ermittelt.

An der Meerschweinchencochlea untersuchten MÜSEBECK und SCHÄTZLE (1962/1965) die im Zitronensäurezyclus den Schritt von der Bernszeinsäure zur Fumarsäure bestimmende Succinodehydrogenase, deren Aktivität vor allem an die Intaktheit der Mitochondrien gebunden ist. Kommt es zu deren Schädigung so wird daraus zwangsläufig eine Abnahme der Succinodehydrogenase resultieren. Nach Applikation von Aminoglycosidantibiotika beobachteten die Autoren eine starke Abnahme des Enzymgehaltes, die sie auf eine Blockierung des aeroben Stoffwechsels als eigentliche Ursache für den weiteren Verlauf der Schädigung und der Funktionsausfälle zurückführen.

Auch die Proteinsynthese wird durch ototoxische Substanzen gestört. ANAND und DAVIS (1960) sowie DUBIN und DAVIS (1961), DUBIN et al. (1963) konnten nachweisen,daß das Streptomycin

an die Außenseite der Zellmembran, bzw. Zellwand absorbiert wird und somit zu einer Beschädigung der Permeabilitätsschranke beiträgt. Die erhöhte Durchlässigkeit der Zelle als lokale Veränderung der Membran gab den Molekülen die Möglichkeit, in die Zelle hinein sowie heraus zu diffundieren. Sie bewiesen weiterhin, daß Streptomycin eine Verbindung mit den Nucleinsäuren im Zellinneren einging. Ein Beweis dafür war die zugleich stattfindende Exkretion verschiedener Ionen und die Beendigung der Proteinsynthese.

Streptomycin führt zu einer Veränderung des 30-S-Ribosoms, die eine falsche Ablesung des Codons durch die Transfer-RNS bedingt (OKAMOTO 1963). Der Codon der Massenger-RNS bindet daraufhin eine falsche Transfer-RNS mit der spezifischen Aminosäure, so daß eine andere Aminosäure in die Peptitkette eingebaut wird als die, die der genetischen Information nach inkorporiert werden müßte (GORINI 1966).

Durch den Mechanismus bei der Blockierung der Proteinsynthese werden somit unbrauchbare Proteine produziert, wodurch die Zelle nicht länger lebensfähig ist.

Nach Gabe von Streptomycin konnte in den Zellen des Innenohres eine Abnahme der Proteinsyntheserate festgestellt werden. Die Befunde entsprechen damit der bekannten Hemmung der Proteinsynthese bei Bakterien von HAHN et al. (1962) und der Hemmung des Wachstums von Gewebekulturen durch Streptomycin (MOSKOWITZ et al. 1963).

Eine auf neuesten Forschungsergebnissen beruhende These zur Frage des Wirkungsmechanismus der Innenohrschädigung nach Neomycin vertritt SCHACHT (1974). Er vermutet eine Störung der Membranpermeabilität, die durch die Membranlipide, insbesondere durch die Polyphosphoinositide, kontrolliert wird. Er glaubt im Stoffwechsel der Membranphospholipide den Angriffspunkt der Aminoglycoside zu sehen. In seinen Arbeiten konnte SCHACHT nachweisen, daß Aminoglycoside (speziell Neomycin nach Gabe von 100 mg/kg Körpergewicht über 21 Tage) beim Meerschweinchen die Einbaurate von (32P)-Orthopospaht in die Phospholipide im Corti-Organ herabsetzen. Spezifisch gehemmt ist der Einbau von 32-Phosphoinositid in die Polyphosphoinositide, die durch ihre Fähigkeit, Calcium zu binden, wahrscheinlich die Funktion von erregbaren Membranen kontrollieren. Er vertritt die Auffassung, daß durch Verminderung der Umsatzrate der Polyphosphoinositide die Membranpermeabilität durch Neomycin gestört ist, Neomycin leichter in die Zelle permeieren kann und dann zu entsprechenden Schädigungen der ribosomalen Elemente führt.

Bei der Suche nach der Ursache der Ototoxizität der Aminoglycosidantibiotika blieben jedoch viele Probleme noch ungelöst.

4. Eigene Untersuchungen

Ziel der Untersuchungen war die Feststellung der Haarzellschädigung nach lokaler Neomycinapplikation. Die in der Arbeit von KÜPPER, STUPP et al. (1970) gefundene Zerstörung der Haarzellen durch Neomycin in wässriger Lösung sollte einer eventuellen Schädigung durch Neomycinsalbe bei lokaler Applikation gegenüber gestellt werden. Hierzu wurden vier Versuchsreihen aufgebaut, bei denen die Wirkung des Neomycins in verschiedenen Stärken und wechselnden Applikationsformen geprüft werden sollte.

Für die vier Versuchsreihen wurden Meerschweinchen (cavia porcellus) verschiedener Stämme und beiderlei Geschlechts ausgesucht, die ein durchschnittliches Gewicht von 270 g aufwiesen, was einem Lebensalter von ungefähr sieben Wochen bei normaler Ernährung entspricht.

Nur ohrgesunde Tiere, also Tiere ohne eine beim Meerschweinchen weit verbreitete Otitis media, konnten zum Versuch herangezogen werden. Hierzu wurden alle Tiere mit negativem Preyer'schen Ohrmuschelrefelx - kein Zucken der Ohrmuschel bei plötzlichen scharfen Geräuschen, Händeklatschen - selektiv aus dem Versuch genommen.

4.1. Operationstechnik

Die Narkose der gesunden Tiere erfolgte durch Injektion des Narkoticums Nembutal^{R} (Pharma-Werke Abbott GmbH, Ingelheim/Rhein) unter die Bauchdecke. Die günstigste Dosis (D) des

Pharmakons (Ph) errechnete sich aus 0,07 ml Nembutal^{R} pro Gramm Körpergewicht (KG).

(D = KG (g) x Ph (0,07 ml))

Hierbei stellte sich heraus, daß Albino-Meerschweinchen empfindlicher waren und diese an sich günstige Narkosemenge nicht vertrugen. Sie überlebten die Narkose nicht. Da sie mit geringerer Menge Pharmakon nicht zu narkotisieren waren, wurde der Albino-Stamm aus dem Versuch genommen.

Nach Entfernen der Nackenhaare des narkotisierten Tieres mit einem elektrischen Rasierapparat oder einer Schere und der Desinfektion des Operationsfeldes mit Dibromol^{R} (Med. Werke Trommsdorf, Aachen) wurde durch einen ca. 1,5 cm langen retroauriculären Schnitt mit einer Präparationsschere unter sterilen Kauteln das Operationsgebiet hinter dem Ohr freigelegt und mit einem selbsthaltenden Spannhaken offengehalten.

Das von TONNDORF und RAUCH (1952, 1964) beschriebene Vorgehen wurde modifiziert.

Mit einer Präparationsschere konnte stumpf die Bulla freigelegt werden, wodurch es nicht nötig wurde, Ligaturen anzulegen. Auch wurde hierdurch die retroauriculäre Muskulatur nicht durchtrennt, was die Gefahr der bei den kleinen Tieren vielfach tödlich verlaufenden Blutungen beträchtlich herabsetzt. Vor uns lag nun der Knochen der Bulla, der sich von

der Umgebung durch seine helle, apfelsinenschalenartige Oberfläche abhob. Es erwies sich als günstig, von dem Knochen mit einem kleinen Rundmesser ein etwa 2 mm großes Plättchen abzuhebeln, um den Zugang zur Paukenhöhle freizulegen. Hierdurch verhindert man eventualle Haarzellschädigungen durch Lärmbelästigung oder Erschütterung bei der Benutzung eines elektrischen Bohrers oder einer groben Knochenzange nach LÜER. Das so abgehebelte Knochenplättchen konnte außerdem anschließend wieder osteoplastisch zur Abdeckung des Defektes benutzt werden.

Durch die geschaffene Öffnung war der Zugang zur Paukenhöhle (Cavum tympani) frei. Die Pauke konnte mittels einer Kanüle mit der entsprechenden Salbe oder Lösung ausgefüllt werden.

Nach Wiedereinfügen des Knochenplättchens wurde der Knochen mit dem Muskel abgedeckt und der Schnitt zum Schluß mit Einzelknopfnähten verschlossen. Für luftdichten Abschluß der Wunde sorgte das anschließend aufgesprühte Nobecutan^{R} (Bastian-Werke, München).

Nach ungefähr 40 Minuten erwachten die Tiere mit starken schüttelfrostähnlichen Krämpfen aus der Narkose und nahmen bereits nach sechzig Minuten wieder Futter zu sich.

Ausgeführt wurden die Tieroperationen sämtlich unter dem Zeiss-Operationsmikroskop.

4.2. Versuchsanordnung

Den eigentlichen Versuchen ging eine Reihe von 24 Pilottieren voraus, an denen die Operations- und Präparationsmethoden erprobt wurden.

In zwei Versuchsreihen zu je zwei Serien wurde Neomycin bei jeweils 10 Tieren pro Serie in verschiedenen Applikationsformen und verschiedenen Konzentrationen im Mittelohr angewandt.

Versuch 1:

Im 1. Versuch sollten die Wirkungen verschieden stark konzentrierter Neomycinsalben auf das Innenohr bei Applikation im Mittelohr getestet werden.

Serie 1 A:

Die eröffnete Paukenhöhle wurde mit 0,38 %iger = 0,003 molarer Neomycinsalbe ausgefüllt. Das jeweils andere Ohr des Meerschweinchens wurde mit neutraler Salbengrundlage gefüllt, um ein vergleichbares Trauma zu setzen.

Serie 1 B:

Bei den Tieren der Serie 1 B wurde in die Paukenhöhle eine 10fach stärkere Neomycinsalbe appliziert (3,8 % = 0,03 molar). Das jeweils andere Ohr wurde wie in Versuch 1 Serie 1 A behandelt.

Versuch 2

Im 2. Versuch wurden die verschieden stark konzentrierten Neomycinsalben verschieden stark konzentrierten Neomycinlösungen gegenüber gestellt, um einen eventuellen Unterschied in der Wirkung festzustellen.

Serie 2 A:

In die eröffnete Paukenhöhle wurde einmalig eine 0,38 %ige = 0,003 molare Neomycinlösung instilliert. Das jeweils andere Ohr des Tieres wurde mit einer ebenfalls 0,38 %igen Neomycinsalbe behandelt.

Serie 2 B:

Mit 10fach stärkerer Neomycinlösung (3,8 % = 0,03 molar) wurde das eine Ohr des Meerschweinchens gefüllt. Das zweite Ohr wurde zur Gegenüberstellung mit 3,8 %iger Neomycinsalbe gefüllt.

Salbe und Lösung wurden jeweils wechselnd rechts und links ins Mittelohr appliziert. Auch wurde darauf geachtet, daß keine abgelaufene oder akute Otitis media bei den Versuchstieren vorlag, was an der verdickten, stärker vascularisierten und rötlich tingierten Schleimhaut sowie am stark verdickten Knochen gut zu erkennen war. Solchermaßen ohrkranke Tiere wurden aus der Versuchsreihe eliminiert.

Die Tiere sollten den Eingriff 14 Tage überleben.

4.3. Fixations- und Präparationstechnik

Zahlreiche histologische Methoden zur Darstellung der Haarzellen des Corti-Organs sind beschrieben. Als Standardmethode gilt heute die Technik nach ENGSTRÖM (1966), die eine Modifikation der Methode von NEUBERT (1952), BECK (1956) und MAILLET (1963) darstellt. Für unsere Fragestellung eignete sie sich am besten, da sie wenn auch nicht die progressive Degeneration (Kernschrumpfung und -schwellung, Pyknosen usw.) so doch sehr gut die zerstörten, fehlenden oder intakten Haarzellen aufzeigt.

Bei der Fixation des Corti-Gewebes griffen wir auf die Osmiumfixation zurück, die schon von KOHONEN (1965) und BREDBERG (1968) erfolgreich auch am Meerschweinchen angewendet wurde.

Vierzehn Tage nach dem chirurgischen Eingriff wurden die Tiere dekapitiert. Nach Abtrennen des Kopfes mit einem kräftigen Scherenschlag und Entfernen der beiden Unterkiefer sowie des Kleinhirns wurden so schnell wie möglich die beiden Bullae tympanicae freigelegt, mit einer großen Knochenzange nach LÜER von der Schädelbasis abgetrennt und gereinigt. Mit einer kleinen Lüerzange wurde jede ausgeschälte Bulla so weit eröffnet, daß man nach Ausspritzen der Salbenreste die in die Bulla hineinragende Schnecke darstellen konnte.

Unter dem Operationsmikroskop perforierten wir mit einer feinen Nadel Schneckenspitze, rundes Fenster und nach Entfernen des Stapes auch das ovale Fenster. Einige Autoren (ENGSTRÖM 1965, BREDBERG 1968) durchspülen die präparierte Schnecke zunächst mit OsO_4-Fixationslösung, bevor sie die Bulla tympanicae in die Osmium-Veronal-Pufferlösung legen. Nach unserer Erfahrung reicht es auch aus, mit einer feinen Nadel zusätzlich in jede Windung der Schnecke eine kleine Öffnung zu bohren und die Schnecke ohne vorherige Durchspülung zu fixieren.

Die so präparierte Schnecke wurde in eine 1,5 %ige Osmium-Veronal-Pufferlösung gelegt.

Wegen der Aggressivität des Osmiums auf die Schleimhäute des Respirationstraktes wurden die Arbeiten sämtlich unter dem Abzug ausgeführt. Auch war es nötig, die Arbeit von der Dekapitation bis zur Fixation möglichst beschleunigt durchzuführen, da sonst durch zu lange Hypoxie des Gewebes Schäden an den Haarzellen auftreten können, die eine Verfälschung des Ergebnisses bedingen könnten (KOHONEN 1965, BREDBERG 1968).

Zusammensetzung der Fixationslösung:

Michaelis A		20,0 ml
Michaelis B		6,8 ml
HCl 0,1-n		22,0 ml
OsO_4		1,0 g
Aqua dest.	ad	75,0 ml

Herstellung der Michaelis-Lösungen:

Michaelis A:		
Natriumacetat		9,714 g
Veronal		14,714 g
Aqua bidest.	ad	500,0 ml

Michaelis B:		
Natriumchlorid		40,3 g
Kaliumchlorid		2,1 g
Kalziumchlorid		0,9 g
Aqua bidest.	ad	500,0 ml

In einem gut verschlossenen Glasgefäß dauerte die Fixation unter Lichtabschluß nicht länger als zwei Stunden bei einer Temperatur von 2° - 4°C. Nach sorgfältigem Ausspülen des Osmiums mit Aqua dest. bleiben die Schnecken noch kurze Zeit in Aqua dest. liegen, bevor sie, wenn sie nicht sofort weiterverarbeitet werden, in 70 %igem Alkohol im Kühlschrank aufbewahrt werden. Es erwies sich als für die Präparation günstig, die Schnecken 24 Stunden in 70 %igem Alkohol liegen zu lassen, da sich dann die verschiedenen Membranen deutlich darstellen.

Die nun folgende Häutchenpräparation wurde in 70 %igem Alkohol unter dem Zeiss-Operationsmikroskop ausgeführt.

Mit einer starken Uhrmacherpinzette oder einer stärkeren aber spitzen Nadel entfernt man zunächst durch stückweises

Abbrechen den Knochenmantel von der Schneckenspitze bis zur Basis. Hierbei dürfen das direkt unter dem Knochen liegende Ligamentum spirale mit der Stria vascularis und die Haarzellen nicht beschädigt werden.

Das weitere Präparieren besteht dann im Entfernen des Ligamentum spirale, der Reissner'schen Membran und der Membrana tectoria mit einer feinen Uhrmacherpinzette. Wie die Erfahrung lehrte, war es nach gelungener Fixation und 24stündiger Aufbewahrung in 70 %igem Alkohol möglich, die frei flottierende Reissner'sche Membran vollständig abzu präparieren. Die Entfernung der Membrana tectoria erwies

Abb. 5: Darstellung einer präparierten Cochlea. Zwischen den Pfeilen die Areale, die entnommen werden. HeC = durch Osmium schwarz gefärbte Hensen'sche Zellen.

sich als schwierig, da sie sich gerne zusammenrollt, dann nur stückweise zu entnehmen ist und die Gefahr der Haarzellschädigung groß ist. Gelingt es nicht, die Membrana tectoria frei zu präparieren, ist eine Beurteilung der Haarzellen wegen der Dicke des Präparates nicht mehr oder nur teilweise möglich.

War die Schnecke gut fixiert und gelang die Präparation, lag nun das Cortiorgan frei (s. Abb. 5).

Aus jeder Windung wird dann, unter Zuhilfenahme eines feinen Messers oder einer sehr feinen Uhrmacherpinzette, ein bestimmtes Segment zur weiteren Untersuchung entnommen. Ausgehend von der Windung 3 1/2 oberhalb des runden Fensters werden immer die gleichen Segmente aus der Windung 3 1/2, 2 1/2, 1 1/2 und 1/2 sorgfältig und unter großer Vorsicht herausgelöst..Die gleichen Segmente deshalb, weil man vergleichbare Ergebnisse erhalten möchte.

Die abgetragenen Gewebsstücke werden auf einen Objektträger in einen Tropfen Glycerin gelegt und mit einem Deckglas abgedeckt.

Die so gewonnenen Präparate - von jeder Schnecke also vier - konnten nun unter dem Phasenkontrastmikroskop (Vergrößerung 600 x) betrachtet und cochleographisch ausgewertet werden (ECKERT-MÖBIUS 1926,VINNIKOW 1961, DE VRIES 1949, KOHNER 1927, HELD 1902, 1926, ENGSTRÖM 1951).

4.4. Cochleographische Auswertung

Die geometrische Anordnung der Haarzellen, wie sie sich bei vielen Säugetieren findet (Meerschweinchen, Ratte, Kaninchen, Katze und Affe) macht es uns leicht, in den Präparaten bei der Auswertung Gebiete aufzudecken und zu lokalisieren, in denen Sinneszellen zerstört sind oder gänzlich fehlen (ENGSTRÖM 1971, FERNANDEZ 1952).

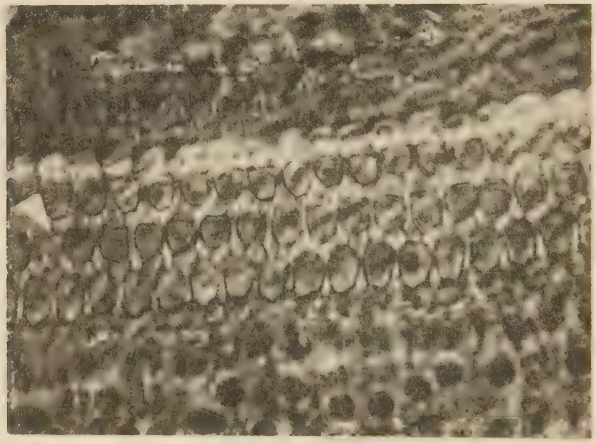

Abb. 6: Häutchenpräparat der 1. Windung (Ausschnitt). Der Pfeil weist auf eine zerstörte Zelle.

Der Vergleich mit korrespondierenden Arealen macht eine genaue Einschätzung der zerstörten oder fehlenden Zellen möglich. Das Fehlen degenerierter Zellen bei jungen Tieren, wie wir sie im Versuch verwendet haben, erleichtert die Beurteilung (FEDERSPIL 1972).

Wie bereits erwähnt, war es bei der hier angewandten Häutchenpräparation nach ENGSTRÖM nicht möglich, eine progessive

Zelldegeneration festzustellen, sondern es wurden nach dem Alles-oder-Nichts-Prinzip nur zerstörte oder intakte Zellen unterschieden und im Cochleogramm vermerkt.

Diese Methode läßt viele Details und subtilere histologische Untersuchungen nicht zu, doch erlaubt sie eine Aussage über den Sitz und das Ausmaß geschädigter Haarzellen nach Einwirkung verschiedener Noxen. Die Vorzüge dieser Methode liegen in der Reproduzierbarkeit und in der quantitativen Erfassung geschädigter Haarzellen.

In ein Cochleogramm (ENGSTRÖM et al. 1966) werden die geschädigten oder zerstörten Zellen mit dem Symbol eines ausgefüllten Kreises eingezeichnet, während intakte Zellen als offene Kreise erscheinen.

Abb. 7: Cochleogramm einer Meerschweinchencochlea. Die Zahl der zerstörten Zellen entspricht der von uns bei gesunden Tieren gefundenen.

Da die Präparate definierte gleiche Segmente aus verschiedenen Windungen darstellen, ist eine Beurteilung einer pathologisch veränderten Cochlea realisierbar.

Um eine gültige quantitative Auswertung vornehmen zu können, muß jedes Häutchenpräparat mindestens 58 äußere Haarzellen pro Reihe enthalten. Da die inneren Haarzellen in unterschiedlichem Maße größer sind als die äußeren, ergibt sich dann für sie eine Zahl zwischen 45 - 52. Daraus folgt, daß pro Windung mindestens 230 Sinneszellen ausgezählt werden. Insgesamt werden so für jede Schnecke mehr als 900 Zellen zur Auswertung kommen.

5. Ergebnisse

Mit Hilfe der beschriebenen Häutchenpräparation nach ENGSTRÖM und der Anfertigung der Cochleogramme sollte der Nachweis einer möglichen Schädigung der Haarzellen des Corti'schen Organs nach Neomycineinwirkung erbracht werden.

Nach den Voruntersuchungen, die 24 Tiere umfaßten, kamen in den vier Versuchsreihen insgesamt 35 Tiere in den Hauptversuch.

Während des Versuchs verstarben einige Tiere entweder durch plötzlich auftretende und nicht zu stillende Blutungen bei der Operation oder durch Infekte wenige Tage nach dem Eingriff.

Bei anderen Versuchstieren wiederum war es nicht möglich, Präparate anzufertigen, da die Bulla oder die Schnecke bei der Fixation stark beschädigt worden war.

Versuch 1, Serie 1 A

Die mit 0,38 %iger Neomycinsalbe in dem einen und neutraler Salbengrundlage in dem anderen Ohr behandelten Tiere wurden dekapitiert, die Bulla entnommen und fixiert und Häutchenpräparate wurden angefertigt.

Tier Nr.

61 dekapitiert nach 14 Tagen - Anfertigung eines Cochleogramms
62 gestorben (nicht ausgewertet)
63 dekapitiert nach 14 Tagen - Anfertigung eines Cochleogramms
64 dekapitiert nach 14 Tagen - Anfertigung eines Cochleogramms
65 dekapitiert nach 14 Tagen - Häutchenpräparat zerstört
66 dekapitiert nach 13 Tagen - Anfertigung eines Cochleogramms
67 dekapitiert nach 13 Tagen - Anfertigung eines Cochleogramms
68 dekapitiert nach 14 Tagen - Anfertigung eines Cochleogramms

Beim Vergleich der Cochleogramme der verwertbaren Tiere ließ sich nach Auszählen der Zellen in den Präparaten folgendes Bild feststellen:
Bei den mit Salbe 2 = 0,38 % behandelten Ohren waren im Durchschnitt 16 Zellen pro Ohr zerstört oder fehlten. Das entspricht 1,6 % der ausgezählten Zellen. Bei den mit Salbengrundlage behandelten Ohren stellten wir eine durchschnittliche Zerstörung von 11 Zellen/Ohr = 1,1 % fest.

Was die Anzahl zerstörter Zellen bezogen auf die Windungen betrifft, war hier festzustellen, daß sich die meisten Zerstörungen in der Windung 3 1/2 befanden, während die 1/2 Windung seltener zerstörte Zellen zeigte. Diese Beobachtung wurde jeweils bei beiden Ohren gleichzeitig gemacht. Als Ergebnis des ersten Versuchs läßt sich also hinsichtlich der applizierten 0,38 %igen Neomycinsalbe feststellen, daß eine signifikante Zerstörung von Sinneszellen durch Neomycin nicht auftrat. Die geringe Zahl zerstörter Zellen lag im Bereich des physiologisch möglichen und entsprach den Werten, die man bei unbehandelten, gesunden Tieren findet.

Versuch 1, Serie 1 B

In der Serie 1 B sollte die Wirkung einer 10fach stärkeren Neomycinsalbe auf das Innenohr getestet werden. Es wurde wieder die Neomycinsalbe einer neutralen Salbengrundlage gegenübergestellt. Die Salben wurden alternativ rechts oder links wechselnd angewendet.

Tier Nr.

71 dekapitiert nach 13 Tagen - Anfertigung eines Cochleogramms
72 dekapitiert nach 13 Tagen - Anfertigung eines Cochleogramms
73 dekapitiert nach 13 Tagen - Anfertigung eines Cochleogramms
74 gestorben (nicht ausgewertet)
75 dekapitiert nach 13 Tagen - Anfertigung eines Cochleogramms
76 dekapitiert nach 13 Tagen - Anfertigung eines Cochleogramms
77 dekapitiert nach 12 Tagen - Anfertigung eines Cochleogramms

78 dekapitiert nach 13 Tagen - Anfertigung eines Cochleogramms
79 dekapitiert nach 13 Tagen - Anfertigung eines Cochleogramms
80 gestorben (nicht ausgewertet)
81 Bulla zerstört

Bei sieben auswertbaren Tieren im Versuch 1, Serie 1 B stellte sich nach Auszählen der Zellen folgendes Ergebnis dar: eine Zerstörung der Haarzellen ließ sich bei mit Salbe 3 (Neomycin 3,8 %) behandelten Tieren im Schnitt an 15 Zellen pro Ohr feststellen. Das entspricht 1,5 % der ausgezählten Zellen. In diesem Versuch waren bei mit Salbengrundlage behandelten Tieren 16 Zellen = 1,6 % pro Ohr zerstört.

Als Ergebnis dieses zweiten Salbenversuchs, diesmal mit 10fach stärkerer Salbe, zeigte sich wiederum, daß nach Applikation von Neomycinsalbe keine signifikante Zerstörung oder Veränderung an den Haarzellen auftraten.

Die aufgetretenen Zerstörungen, die sich zwischen 1 - 2 % der beobachteten Zellen bewegten, entsprachen in beiden Versuchsserien des 1. Versuchs den Werten, die bei mit Salbengrundlage behandelten und bei unbehandelten, gesunden Tieren gefunden werden und im physiologischen Bereich liegen.

Zusammenfassung des ersten Versuchs:

Festgestellte Haarzellzerstörung in Versuch 1:
bei Salbe 1 (Salbengrundlage) in Serie 1 A und 1 B: 1,4 %
bei Salbe 2 (Neomycinsalbe 0,38 %) in Serie 1 A: 1,6 %
bei Salbe 3 (Neomycinsalbe 3,8 %) in Serie 1 B: 1,5 %

Die relativ stärksten Zerstörungen befanden sich bei allen Tieren in der Windung 3 1/2 und nahmen zur Basis hin ab.

Versuch 2, Serie 2 A

Vergleich der Haarzellschäden bei Anwendung von Neomycin in verschiedenen Applikationsformen an demselben Tier. Behandlung des einen Ohres mit 0,38 %iger Neomycinsalbe, des anderen Ohres mit 0,38 %iger Neomycinlösung nach oben beschriebener Methode. Die verschiedenen Applikationsformen kamen wechselnd im rechten und linken Ohr der Meerschweinchen zur Anwendung.

Tier Nr.
82 dekapitiert nach 14 Tagen - Anfertigung eines Cochleogramms
83 dekapitiert nach 14 Tagen - Anfertigung eines Cochleogramms
84 dekapitiert nach 14 Tagen - Anfertigung eines Cochleogramms
85 Häutchenpräparat zerstört
86 dekapitiert nach 14 Tagen - Anfertigung eines Cochleogramms
87 dekapitiert nach 14 Tagen - Anfertigung eines Cochleogramms
88 dekapitiert nach 14 Tagen - Anfertigung eines Cochleogramms
89 gestorben (nicht ausgewertet)

Nach einmaliger Instillation von 0,38 %iger Neomycinlösung waren Zerstörungen nach Auswertung der Präparate an durchschnittlich 17 Haarzellen des Corti'schen Organs festzustellen. Das entspricht wieder 1,7 % der bewerteten Zellen. Die Quote der zerstörten Zellen lag bei den mit schwacher Salbe behandelten Tieren bei 1,2 % der Zellen = Schädigung an im Schnitt 12 Zellen. Das entspricht dem erzielten Ergebnis der Serie 1 A.

Ergebnis Versuch 2, Serie 2 A:
Keine signifikante Beschädigung der Haarzellen nach einmaliger Anwendung von 0,38 %iger Neomycinlösung und -salbe.

Versuch 2, Serie 2 B
Gegenüberstellung der Wirkung von 3,8 %iger Neomycinsalbe und 3,8 %iger Neomycinlösung am gleichen Tier.

Tier Nr.
91 dekapitiert nach 14 Tagen - Anfertigung eines Cochleogramms
92 dekapitiert nach 14 Tagen - Anfertigung eines Cochleogramms
93 gestorben (nicht ausgewertet)
94 dekapitiert nach 14 Tagen - Anfertigung eines Cochleogramms
95 dekapitiert nach 14 Tagen - Anfertigung eines Cochleogramms
96 Bulla zerstört
97 dekapitiert nach 14 Tagen - Anfertigung eines Cochleogramms
98 gestorben (nicht ausgewertet)

Massive Zerstörungen der Haarzellen - bei fast allen bewerteten Ohren 100 % - konnten wir an dem Corti'schen Organ

der Tiere feststellen, denen eine einmalige Dosis von 3,8 %iger Neomycinlösung ins Mittelohr instilliert worden war. Das jeweils andere Ohr, das mit 3,8 %iger Neomycinsalbe behandelt war, wies die gleiche Zahl an Zerstörungen auf, wie wir sie schon bei der Serie 1 B gesehen hatten. Wieder waren hier nur 16 Zellen pro Ohr durchschnittlich beschädigt = 1,6 %.

Zusammenfassung des zweiten Versuchs:

Festgestellte Haarzellbeschädigung in Versuch 2:

bei Lösung 2 (Neomycin 0,38 %) in Serie 2 A:	1,7 %
bei Salbe 2 (Neomycin 0,38 %) in Serie 1 A und 2 A:	1,4 %
bei Salbe 3 (Neomycin 3,8 %) in Serie 1 B und 2 B:	1,6 %
bei Lösung 3 (Neomycin 3,8 %) in Serie 2 B:	100 %

Haarzellschäden in der oben beschriebenen Form konnten also nach Anfertigung der Cochleogramme nach ENGSTRÖM bei den Tieren, die sowohl mit schwacher und auch starker Neomycinsalbe als auch mit schwacher Neomycin-Lösung behandelt worden waren, in signifikanter Weise nicht aufgezeigt werden. Die Prozentzahl der Zerstörungen hielt sich in allen aufgezeigten Fällen in physiologischen Grenzen.

Bei den Meerschweinchen, die eine einmalige Instillation von starker 3,8 %iger Neomycin-Lösung erhielten, waren die Haarzellen zu 100 % zerstört. Hier wies das eine Ohr eine vollständige Schädigung auf, während beim gleichen Tier

das mit Salbe behandelte Ohr ohne jede signifikante Zerstörung vorlag.

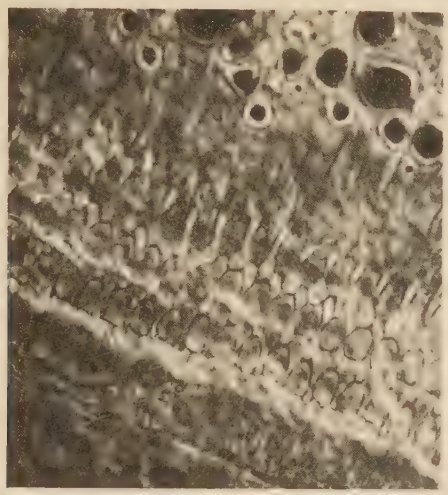

Abb. 8: Häutchenpräparat der 2. Windung des rechten Ohres vom Tier Nr. 94. Das Ohr wurde mit starker Neomycinsalbe behandelt. Keine Haarzellschäden.

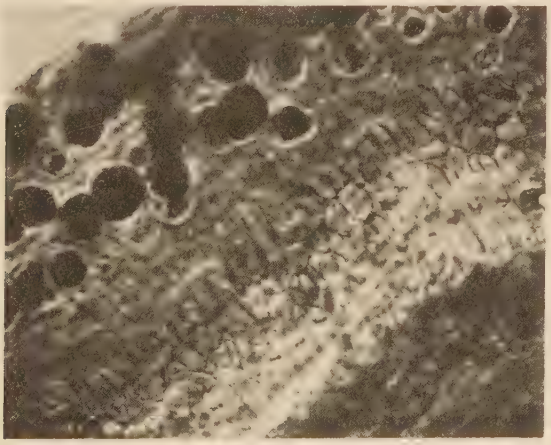

Abb. 9: Häutchenpräparat der 2. Windung des linken Ohres vom Tier Nr. 94. Das Ohr wurde mit starker Neomycinlösung behandelt. Zerstörung aller Haarzellen.

6. Diskussion

Die gut bekannte und schon früh nach der Entdeckung des Neomycins beschriebene Ototoxizität nach parenteraler, oraler und oberflächlich lokaler Applikation der Substanz, die guten Heilerfolge nach Infektionen und die häufige, erfolgreiche klinische Anwendung von Neomycin als Salbe in der Hals-Nasen-Ohren-Heilkunde - nach Ohroperationen in Salbenstreifen kombiniert - waren für uns der Grund, der Frage nachzugehen, ob und in wieweit auch bei lokaler direkter Anwendung am Mittelohr, also in unmittelbarer Nähe der Haarzellen, hier eine Schädigung beobachtet werden kann.

Als mögliche Applikationsformen standen uns Neomycin in Salbengrundlage und als Lösung zur Verfügung, so wie sie auch in der Klinik am Mittelohr zur Anwendung kommen.

Erste tierexperimentelle Untersuchungen über die lokale Applikation von antibiotischen Substanzen im Mittelohr wurden 1970 von KÜPPER, STUPP et al. gemacht. Sie untersuchten die wichtigsten Antibiotika auf ihre Ototoxizität und fanden, daß die Antibiotika der Streptomycesgruppe in allen Schneckenwindungen eine massive Zerstörung der Sinneszellen verursachten. Während bei allgemeiner Applikation vor allem die unteren Windungen betroffen waren, erschreckte sich der Untergang der Haarzellen bei lokaler Anwendung nahezu gleichmäßig über alle Schneckenwindungen. Neomycin erwies sich hier als stärkstes ototoxisches Antibioticum,

während Streptomycin nur einen geringgradigen Innenohrhaarzellschaden hervorrief.

Diese Befunde konnten wir für Neomycin bestätigen. Während die Voruntersucher 0,1 molare Lösungen durch dreimalige Instillation anwandten und über 72 Stunden einen gleichmäßig hohen Wirkstoffspiegel im Mittelohr der Tiere erreichten, konnten wir durch einmalige Instillation von 0,03 molarer Neomycinlösung nach 14 Tagen den gleichen Effekt, eine 100 %ige Haarzellschädigung in allen Windungen, erzielen. Durch die einmalige Gabe der Lösung konnte ein genügend hoher Schadstoffspiegel in der Endolymphe erzeugt werden. Die von uns in einem anderen Versuch angewandte 0,003 molare Lösung erwies sich dagegen als zu schwach, um genügend hohe Schadstoffkonzentrationen in Peri- und Endolymphe zu erreichen. Es traten hier keine Haarzellschäden auf.

In der Anreicherung der schwer resorbierbaren, giftigen Stoffe im Innenohr ist wahrscheinlich die primäre Ursache der Ototoxikose zu sehen. Sie geht der eigentlichen Innenohrschädigung voraus und könnte auch als erste, einleitende Phase der Intoxikation bezeichnet werden.

Durch Resorption und Kumulation in den Nierentubuli und in der Innenohrlymphe scheint das schädigende Neomycin die hohen Konzentrationen zu erreichen, die bei den Innenohrhaarzellen die Zerstörung hervorrufen können. Bei lokaler

Anwendung im Mittelohr als Lösung besteht die Möglichkeit einer Resorption durch die Mittelohrschleimhäute mit einer Diffusion in das Innenohr. Da es dort retiniert wird, konzentriert es sich in der Peri- und Endolymphe. Die Konzentrationen können dann, bei genügend lange hohem Blutspiegel, so groß werden, daß sie in der Lage sind, von der Endolymphe aus Schäden an den Haarzellen in unterschiedlichem Maße anzurichten.

Ein weiterer möglicher Weg der Innenohrschädigung ist das Eindringen in den Perilymphraum durch das runde Fenster (ORSULAKOVA 1975) oder durch die Verbindung der Lymphspalten der Mittelohrschleimhaut mit den flüssigkeitsgefüllten Innenohrräumen (ARNOLD, v. ILBERG 1971).

Die erst spät und selten beschriebene Toxizität nach oraler Anwendung mag weniger häufig gesehen worden sein, da durch die Resorption über den Magen-Darm-Kanal nur bei massiver oraler Gabe von Neomycin ein genügend hoher Neomycin-Blutspiegel erreicht wird.

KUNIN (1960) gibt nach intramuskulärer Injektion eines Grammes Neomycin einen Blutspiegel von 20 µg/ml an. KACKER (1970) ergänzt die Aussage und berichtet, daß eine Gabe von 200 mg/kg Körpergewicht täglich über 6 Tage injiziert die adaequate Dosis ist, um einen Blutspiegel zu erreichen, der die Haarzellen zu schädigen in der Lage ist. Nach STUPP (1970) erreichen die Antibiotika der Aminoglycosidgruppe

bereits in niedriger, nicht toxischer Dosierung einen relativ hohen Innenohrspiegel. Die Ursache hierfür ist wahrscheinlich in einer erschwerten Elimination und Retention der Substanzen dieser Antibiotikagruppe in den Innenohrräumen zu sehen. Noch nach Stunden, wenn der Blutspiegel bereits abgesunken war, übertraf die Konzentration der Aminoglycosidantibiotika in der Innenohrlymphe den Blutspiegel um ein vielfaches. Bei Neomycin war der Blutspiegel geringer erniedrigt, da durch gleichzeitige Nierenschädigung die Ausscheidung verzögert verlief.

Die ausgesprochene Kumulation des Neomycins in der Perilymphe nach Überschreiten der toxischen Schwelle und die Retention nennt STUPP (1970) einen toxisch bedingten Kumulationsprozeß, dessen Ursache möglicherweise auf einer membranblockierenden Wirkung beruht.

Da wir in unseren Versuchen bei salbenbehandelten Tieren keine Haarzellschäden finden konnten, bleibt zunächst festzustellen, daß nach Anwendung von Neomycin in Salbengrundlage bei lokaler Therapie in unmittelbarer Nähe der Haarzellen nicht die genügend hohe Konzentration erreicht wird, die nötig ist, um den von SCHACHT (1974) als Schädigungsmechanismus angesehenen Eingriff in den Polyphosphoinositid-Metabolismus auszulösen.

Die Antwort auf die Frage nach dem „Warum" dieser Hypothese muß uns die Pharmakologie und die Pharmakodynamik der Salben, der speziellen Salbengrundlagen und der in ihnen inkorpo-

rierten Medikamente geben.

Die in unseren Versuchen und auch in der Hals-Nasen-Ohren-Heilkunde verwendete Salbengrundlage ist das Vaselin, in das die antimikrobielle Substanz Neomycin eingearbeitet ist. Vaselin gehört nach Hagers Handbuch der pharmazeutischen Praxis zu den Paraffin-Kohlenwasserstoff-Gelen und ist im Gegensatz zu den Emulsions- und Absorptionssalben mit den Fettsalben (Schweineschmalz) eine wasserfreie Salbengrundlage, die nur wenig Wasser aufnimmt und daher im wesentlichen für wasserfreie Zubereitung von fettlöslichen Medikamenten geeignet ist. Sie dient vor allem der Herstellung von Decksalben.

Vaselin bewirkt eine überaus langsame Diffusion und Abgabe aller inkorporierter Arzneistoffe, die dadurch kaum penetrieren. Sie ist deshalb geeignet zur Erzielung einer Depotwirkung sowie für Medikamente, die nur oberflächlich wirksam sein sollen.

In ihren Arbeiten konnten MONCORPS (1929, 1932) und KUTZIM (1956) diese Aussage bestätigen. MONCORPS wies beim Vergleich verschiedener Salbengrundlagen mit inkorporierter Salicylsäure und Schwefel nach, daß bei Verwendung von Vaselin die Salicylsäure selbst beim Einreiben bei weitem am geringsten vom Körper aufgenommen wurde,und daß Schwefel-Vaselin-Salbe nur in geringem Maße das Arzneimittel abgab. KUTZIM zeigte, daß sich bei Verwendung von 10 %iger radioaktiver NaJ^{131}-Vaseline auf normaler Haut nach 24 Stunden

noch 90 % des aufgetragenen Natriumjodids nachweisen ließ und nur 10 % absorbiert worden war. Bei nässenden Wunden und entzündlicher Haut erhöht sich der Prozentsatz des resorbierten Natriumjodids stark, was eine Erklärung für die Haarzellschäden nach topischer Anwendung von Neomycinsalbe geben kann.

Im HAGER wird auch darauf hingewiesen, daß die bis heute meist am Auge verwendete Vaselingrundlage verlassen werden sollte, da auch die Diffusion der Medikamente in die Tränenflüssigkeit schlechter ist als aus anderen Grundlagen.

Die Verwendung von Vaselin als Salbengrundlage für die Einarbeitung des Neomycins scheint damit in unserer Arbeit der Grund für die geringe Schädigung der Haarzellen des Innenohres nach lokaler Salbenapplikation im Mittelohr zu sein. Durch die geringe Abgabe von Neomycin aus der Salbengrundlage wird also der kutan-lokale Effekt des Medikamentes verstärkt,während der perkutane-innere Effekt - eine Konzentrierung von Neomycin im Innenohr durch Resorption - verhindert wird.

Da in der Klinik nach lokaler Salbenstreifenbehandlung mit Neomycin eine deutliche Besserung der Infektion des Mittelohres und des Gehörgangs erreicht werden kann und unsere Untersuchungen am Meerschweinchen keine ototoxischen Schäden nach einer solchen Anwendung aufzeigen, ist eine Weiterführung der Behandlung des äußeren Gehörgangs beim Menschen

auch bei Perforation des Trommelfells mit Neomycinsalbe als weitgehend bedenkenlos anzusehen.

7. Zusammenfassung

Die Frage der Haarzellschädigung im Cortiorgan des Meerschweinchen nach lokaler Behandlung des Mittelohres mit Neomycinsalbe und -lösung in verschiedenen gebräuchlichen Konzentrationen ist Gegenstand dieser Arbeit.

Nach einer zusammengefaßten morphologisch-anatomischen Beschreibung des Innenohres wird die Chemie und der klinische Anwendungsbereich des Neomycins in der modernen Medizin mit besonderer Beachtung der Hals-Nasen-Ohren-Heilkunde beschrieben.

In einem weiteren Abschnitt wird versucht, eine Übersicht über die bis heute bekannten und beschriebenen toxischen Nebenwirkungen des Neomycins in Tierversuchen und Klinik zu geben und die verschiedenen Thesen über die Ursache und den Wirkungsmechanismus der Schädigung durch Aminoglycosidantibiotika zusammenzufassen.

Ausführlich wird auf die Operations- und Präparationstechnik der eigenen Versuche eingegangen. An insgesamt 35 Versuchstieren (Meerschweinchen) wird Neomycinsalbe und -lösung in unterschiedlicher Dosierung (0,38 % und 3,8 %) einmal im Vergleich mit einer neutralen Salbengrundlage, einandermal im Vergleich der Applikationsform untereinander angewandt.

Nach Anfertigung der Präparate des Corti-Organs und Auswertung im Cochleogramm nach ENGSTRÖM konnten zunächst einmal

die Ergebnisse von KÜPPER, STUPP et al. (1970) über die lokale Applikation von Neomycin-Lösung im Mittelohr und deren Schädigung am Innenohr bestätigt werden. Selbst bei einmaliger Instillation der starken 3,8 %igen = 0,03 molaren Lösung war eine 100 %ige Zerstörung der Haarzellen zu beobachten. Bei der schwachen 0,38 %igen = 0,003 molaren Lösung konnte die zur Schädigung nötige Konzentration in der Innenohrlymphe nicht erreicht werden. Hier traten keine Schäden auf.

Bei der Neomycinsalbe verhielt es sich ebenso. Bei der schwachen und auch bei der starken Salbe, wie sie in der Hals-Nasen-Ohren-Heilkunde verwendet wird, traten keine Haarzellschäden am Corti-Organ auf.

Eine lokale Anwendung von Neomycinsalbe im äußeren Gehörgang selbst bei perforiertem Trommelfell ist in den gegebenen Konzentrationen als bedenkenlos anzusehen.

Aufgrund des gleichen Verhaltensmusters bei Lärmschaden, Altersschwerhörigkeit und bei Schädigung des Innenohres durch ototoxische Substanzen von Meerschweinchen und Mensch (HAWKINS 1973, BREDBERG 1973) können unsere Versuchsergebnisse mit Vorbehalt auf den Menschen übertragen werden.

Literatur:

1. ANAND, N. and B.D. DAVIS: Effect of streptomycin on bacteria coli. Damage by streptomycin to the cell membrane of E. coli Nature 185, 22 (1960)

2. ANDRE, T.: Studies on the distribution of tritium-labelled dihydrostreptomycin and tetracyclin in the body Acta radiol. Suppl. (Stockh.) 142, 1-89 (1956)

3. ARNOLD, W.: Die Bedeutung des subepithelialen Raumes der Mittelohrschleimhaut Arch.klin.exp.Ohr.-,Nas.- u.Kehlk.-Heilk. 198, 262-280 (1971)

4. ARNOLD, W. und C. v. ILBERG: Verbindungswege zwischen Liquor und Perilymphraum Arch.klin.exp.Ohr.-,Nas.- u. Kehlk.-Heilk. 198, 247-261 (1971)

5. ARORA, K.L. and K. MURTI: Enzyme inhibition studies in relation to drug action J. Sci.Ind.Res. 13 B 482 (1954) Ref. Chem. Abstr. 6488 (1955)

6. ARTMANN, M., MARKENSON, J. and A.L. OLITZKI: Dihydrostreptomycin inhibitation of cysteine desulfhydrase in cell free extracts of E. coli Proc. Soc. exp. Biol. Med. 90, 584 (1955)

7. BARGMANN, W.: Histologie und mikroskopische Anatomie des Menschen G. Thieme, Stuttgart 659-678 (1967)

8. BARTMANN, K.: Antimikrobielle Chemotherapie Springer Verlag Heidelberger Taschenbücher 150-153 (1974)

9. BECK, Chl.: Reaktion der Kerne der äußeren Haarzellen beim Meerschweinchen auf adaequate Reize Arch.Ohr.-, Nas.-, Kehlk.-Heilk. 170, 81 (1956)

10. BECK, Chl. und P. KRAHL: Experimentelle und feingewebliche Untersuchungen über die Ototoxizität von Kanamycin Arch.Ohr.-, Nas.-, Kehlk.-Heilk. 197, 594-610 (1962)

11. BRAGG, P.C. and W.J. POLYGLASE:
Extracellular metabolites of streptomycin mutants on E. coli
J. Bact. 84, 370 (1962)

12. BREDBERG, G.:
Cellular pattern and nerve supply of the human organ of Corti.
Acta oto-laryng., Suppl. 236 (1968)

13. BREDBERG, G.:
Experimental pathology of noise-induced hearing loss
Adv. Oto-Rhino-Laryng., Vol. 20, 102-114 (Karger, Basel 1973)

14. CARR, T.C., BROWN, H.A. and K.H. PFUETZE:
Occurrence of deafness in neomycin Therapy
J.A.M.A. 144, 65 (1950)

15. CARR, T.C., PFUETZE, K.H., et al.:
Neomycin in clinical tuberculosis
Amer.Rev.Tub. 63, 427-433 (1951)

16. COURVOUSIER, S. and O. LEAU:
Study of the onset of deafness in rats treated with streptomycin, dihydrostreptomycin and neomycin
Antibiot. Chemother. (N.Y.) 6, 411-420 (1956)

17. DE VRIES, H.L.:
Struktur und Lage der Tektorial-membran in der Schnecke
Acta Oto-Laryng. (Stockh.), Suppl. 37, 334 (1949)

18. DILLMANN, G.:
Zur lokalen Antibiotikatherapie in der Chirurgie
Z. Allgemeinmedizin 47, 1664-1666 (1971)

19. DUBIN, D.T. and B.D. DAVIS:
The effect of potassium flux in E. coli
Biochim. biophys. Acta 52, 400 (1961)

20. DUBIN, D.T., HANCOCK, R. and B.D. DAVIS:
The sequence of some effects of streptomycin in E.coli
Biochim. biophys. Acta 74, 476 (1963)

21. ECKERT-MÖBIUS, A.: Mikroskopische Untersuchungstechnik und Histologie des Gehörorgans Handbuch der HNO-Heilk., Bd. VI, herausgegeben von A. DENKER und O. KAHLER, Springer-Verlag, Berlin (1926)

22. EDITORIAL Brit. Med. J. Deafness after topical Neomycin 1969 IV pp 181-182

23. ENGSTRÖM, H.: Microscopic anatomy of the inner ear Acta Oto-Laryng., Stockh., Suppl. 40, 5 (1951)

24. ENGSTRÖM, H. and H. KOHONEN: Cochlear damage from ototoxic antibiotics Acta Oto-laryng. 59, 171 (1965)

25. ENGSTRÖM, H., ADES, H.W. and A. ANDERSON: Structural pattern of the organ of Corti Almquist and Wiksell, Stockholm (1966)

26. ENGSTRÖM, H. and H. W. ADES: Ultrastructur of the cochlea North Holland Publ. Comp., Amsterdam (1971)

27. FARKASHIDY, J., R.G. BLACK and T.D.R. BRIANT: The effekt of kanamycin on the internal ear: an electrophysiological and electron microscopic study Laryngoscope (St. Louis) 73, 713-727 (1963)

28. FEDERSPIL, P.: Das Cochleogramm des normalen Meerschweinchens Arch.klin.exp.Ohr.-,Nas.- u.Kehlk.-Heilk. 201 (1972) Springer Verlag, Berlin

29. FENEIS, H.: Anatomische Bildnomenklatur G. Thieme, Stuttgart, 337-351 (1970)

30. FERNANDEZ, C.: Dimension of the cochlea (guinea pig) J. acoust. Soc. Amer., 24 (1952)

31. FIELDS, R.L.: Neomycin ototoxicity: report of a case due to rectal and colonic irrigation
Arch. Otolaryng. (Chicago) 79, 67-70 (1964)

32. GILLISSEN, G. und M. RUDA: Die Beeinflussung der Phosphatasen von pyogenes var. aureus durch Penicillin und Neomycin
Z. Hyg. Infekt.-Kr. 144, 401 (1958)

33. GOLDNER, A.J.: Profound deafness from neomycin sulfate
New York J. Med., 58, 2226-2228 (1958)

34. GORINI, L.: Antibiotics and the genetic code
Sci. Amer. 214, 102 (1966)

35. GREENWOOD, G.J.: Neomycin ototoxicity
Arch. Otolaryng. (Chicago) 69, 390-397 (1959)

36. GRIWOTTA, E.: Therapie der Hyperammonaemie bei Leberkranken unter besonderer Berücksichtigung von Neomycin
Z. Allgemeinmedizin 50, 188-191 (1974)

37. FRERICHS, G., ARENDS, G. und H. ZÖRNIG: Hagers Handbuch der pharmazeutischen Praxis
Zweiter Ergänzungsband (1958)

38. FRERICHS, G., ARENDS, G. und H. ZÖRNIG: Hagers Handbuch der pharmazeutischen Praxis
Vierte Neuauflage, Bd. VII, Teil A, 536-560 (1971)

39. HAHN, F.E., CIAK, J., WOLFE, A.D., HARTMANN, R.E., ALLISON, J.L. and R.S. HARTMANN: Studies on the mode of action of streptomycin
Biochim. biophys. Acta (Amsterdam) 61, 741 (1962)

40. HANCOCK, R.: Reduced oxidative activities in E. coli and Bacillus meganterium in relation to other changes during inhibitation of growth by streptomycin
J.Gen.Microbiol. 25, 429 (1961)

41. HAWKINS, J.E.: The ototoxicity of neomycin
Trans. 11th Conf. Tuberc., Veterous Administr., Washington (1952)

42. HAWKINS, J.E.: Comparative otopathology: aging, noise and ototoxic drugs
Adv. Oto-Rhino-Laryng. Vol. 20, 125-141 (1973), Karger, Basel

43. HELD, H.: Untersuchungen über den feinen Bau des Ohrlabyrinthes der Wirbeltiere. Zur Kenntnis des Corti'schen Organs und der übrigen Sinnesapparate des Labyrinthes bei Säugetieren
Abhdlg. math.-phys. königl. sächs. Akad. d. Wiss., Leipzig, 28 (1902)

44. HELD, H.: Die Cochlea der Säuger und der Vögel, ihre Entwicklung und ihr Bau
Handbuch der normalen und pathol. Physiologie 2, 467 (1926)

45. HEIM, W.H.: Ototoxicity of neomycin aerosol
Lancet 1, 1294 (1960)

46. v. ILBERG, C.: Auskleidung der Perilymphräume im Innenohr
Z. Laryng. Rhinol. Otol. 47, 353-360 (1968)

47. IURATO, S.: Submicroscopic structure of the inner ear
Pergamon Verlag (1967)

48. KACKER, S.K.: Neomycin-induced spiral organ degeneration in the guinea pig
Laryngoscope 80, 391-399 (1970)

49. KALBIAN, v. V.: Deafness following oral use of neomycin
Southern Med. J. 65, 499-501 (1972)

50. KELLY, D.R., NILO, E.R. and R.B. BERGGREN: Deafness after topical neomycin wound irrigation
New Eng. J. Med. 280, 1338-1339 (1969)

51. KLINOV, A.N.: Action of Penicillin and Streptomycin on metabolism of animal organism
Antibiotici 3, Nr. 5, 58 (1958
Ref. Chem. Abstr. 2477 (1959)

52. KÖRTGE-STÖPPLER, S. und G. MITTAG: Nil nocere, Taubheit durch intramusculäre Neomycinanwendung
Münch. Med. Wschr. 100, 1189-1192 (1958)

53. KOHNER, W.: Gehörorgan
Möllendorff's Handbuch der mikroskopischen Anatomie des Menschen
3, 250
Springer-Verlag Berlin (1927)

54. KOHONEN, A.: Effect of some ototoxic drugs upon the pattern and innervation of cochlear sensory cells in the guinea pigs
Acta oto-laryng. (Helsinki) Suppl. 208 (1965)

55. KÜPPER, K., STUPP, H., ORSULAKOVA, A. und M. QUANTE:
Vergleichende Untersuchungen der Ototoxizität verschiedener antibiotischer Substanzen bei lokaler Applikation am Innenohr des Meerschweinchens
Arch. klin. exp. Ohr.-, Nas.- u. Kehlk.-Heilk. 196 (2), 169-172 (1970)

56. KUNIN, C.M., CHALMERS, C.T., LEEVY, C.M. et al.:
Absorption of orally administered neomycin and kanamycin
New Eng. J. Med. 262, 380-385 (1960)

57. KUTZIM, H.: Quantitative Untersuchungen über die Absorption durch die Warmblüterhaut mit radioaktiven Isotopen
II. Mitteilung
Arch. klin. exp. Dermatologie 203, 323-329 (1956)

58. LAGLER, F., OSTERLOH, G. and H. MÜCKTER:
Studies on the pharmakology of kanamycin
Antibiot. Ann. J. 7, 862 (1959/60)

59. LEACH, W.: Ototoxicity of neomycin and other antibiotics
J. Laryng. 76, 774-790 (1962)

60. LEONHARDT, H.: Histologie, Cytologie und Mikroanatomie des Menschen
G. Thieme, Stuttgart, 264-271 (1973)

61. LINDSAY, J.R., PROCTOR, L.R. and W.P. WORK:
Histopathologic inner ear changes in deafness due to neomycin in a human
Laryngoscope (St. Louis) 70, 382-392 (1960)

62. MAILLET, M.: Le réactif au tétraoxyde d'osmium-iodure de zinc
Rev. Med. Tour 4, 247 (1963)

63. MASCITELLI-CORIANDOLI, E., BOLDRINI, R. und CITTERIO, C.: Abnahme des Gehaltes von Co A in der Leber und den Nieren bei experimenteller Nephrose
Naturwissenschaften 45, 442 (1958)

64. MASCITELLI-CORIANDOLI, E., BOLDRINI, R. und CITTERIO, C.: Die Wirkung des Panthetins auf das Co A der Leber und Niere bei experimenteller Nephrose
Naturwissenschaften 46, 111 (1959)

65. MONCORPS, C.: Untersuchungen über die Pharmakologie und Pharmakodynamik von Salben und salbeninkorporierten Medikamenten
Arch. exp. Pathologie und Pharmakologie
Band 141, 50 (1929)
Band 163, 377 (1932)

66. MOSKOWITZ, M. and N.E. KELKER: Sensitivity of cultured mammalian cells to streptomycin and dihydrostreptomycin
Science 141, 647 (1963)

67. MÜCKTER, H.: Zur Pharmakologie der basischen Streptomyces-Antibiotica
Antibiotica und Chemotherapie
Sep. Vol. 9 Basel-New-York
S. Karger (1962)

68. MÜSEBECK, K. und W. SCHÄTZLE: Histochemischer Nachweis proteingebundener Sulfhydryle in der Meerschweinchenschnecke
Arch. Ohr.-, Nas.-, Kehlk.-Heilk. 180, 579 (1962)

69. MÜSEBECK, K.: Zum Wirkungsmechanismus der Streptomycinvergiftung des Ohres
Arch. Ohr.-, Nas.-, Kehlk.-Heilk. 182, 583 (1963)

70. MÜTING, D.: Pathogenese und Therapie der portalen Enzephalopathie
Dtsch. Med. Wschr. 96, 1403-1408 (1971)

71. NEUBERT, K.: Zur morphologischen Erfassung der Ansprechgebiete im Innenohr
Verh. Anat. Ges. 50, 204-209 (1952)

72. NEUMÜLLER, O.-A.: Römpps Chemie-Lexikon
Frankh'sche Verlagshandlung
Stuttgart 2299 (1974)

73. OKAMOTO, R. and M. TAKANAMI:
Interaction of ribosomes and some synthetic polynucleotides
Biochim. biophys. Acta 68, 325 (1963)

74. ORSULAKOVA, A. und H. STUPP:
Experimentelle pH-Veränderungen im Mittelohr und ihre Wirkung auf das Innenohr
Arch. Oto-Rhino-Laryng. 209, 23-31 (1975)

75. OWADA, K.: Experimental studies on the toxicity of kanamycin, its hydrolyzed products and neomycin
Chemotherapia 5, 277 (1962)

76. POWELL, L.W. jr. and J.W. HOOKER:
Neomycin nephropathy
JAMA 160, 557-560 (1956)

77. QUANTE, M.: Haarzellschäden am Corti-Organ des Meerschweinchens nach kombinierter Einwirkung von Lärm und ototoxischen Antibiotica
Habilitationsschrift, Düsseldorf (1974)

78. QUANTE, M.: Taubheit nach lokaler Neomycinapplikation
Persönliche Mitteilung, Düsseldorf (1975)

79. RAUCH, S.: Biochemie des Hörorgans
G. Thieme, Stuttgart (1964)

80. RAUCH, S.: Membrane problems of the inner ear and their significance
J. Laryng. 80, 144 (1966)

81. REIMLING, E.: Nebacetin in surgical practice
Z. Allgemeinmedizin 46, 296-299 (1970)

82. RISKAER, N., CHRISTENSEN, E., PETERSEN, P.V. und H. WEIDMANN:
The ototoxicity of neomycin
Acta Otolaryng. (Stockh.), 46, 137-152 (1956)

83. RUBEN, R.J. and J.F. DALY:
Neomycin ototoxicity and nephrotoxicity
Laryngoscope 78, 1734-1737 (1968)

84. RÜEDI, L., GRAF, K. und B. TSCHIRREN:
Vorläufige Mitteilung über die toxische Wirkung von Neomycin auf das Gehörorgan des Meerschweinchens
Schweiz. Med. Wschr. 83, 951-953 (1953)

85. SCHACHT, J.:
Interaction of Neomycin with phosphoinositide metabolism in guinea pig inner ear and brain tissues
Ann. Otol. Rhinol. Laryngol. 83 (5), 613-618 (1974)

86. STAEMMLER, M. und V. DUDKOVIAK:
Über die Wirkung des Kanamycins auf die Nieren. Experimentelle morphologische Untersuchungen
Med. Welt 24, 1296 (1961)

87. STRAUSS, P.:
Vergleichende Untersuchungen unterschiedlicher Operationstechniken bei der chronischen Otitis media
Habilitationsschrift (1975)
Düsseldorf

88. STUPP, H., RAUCH, S., SOUS, H., LAGLER, F. und J.P. BRUIN:
Die Ursache der spezifischen Ototoxizität der basischen Streptomycesantibiotika - ein Permeabilitätsproblem
Med. et Hyg. 23, 988-990 (1965)

89. STUPP, H.:
Untersuchungen der Antibioticaspiegel in den Innenohrflüssigkeiten und ihre Bedeutung für die spezifische Ototoxizität der Aminoglycosidantibiotica
Acta oto-laryng., Stockholm, Suppl. 262 (1970)

90. TONNDORF, J.:
Surgical approach to the bulla tympanica in the guinea pig, rabbit, cat and dog
Air Univ. Randolph Field, Texas (1952)

91. TYBERGHEIN, J.:
Influence of some streptomyces antibiotics on the cochlear microphonics in the guinea pig
Acta Otolaryng. (Stockh.) Suppl. 171, (1962)

92. VINNIKOW, J.A. and L.K. TITOWA:
Corti-Organ
Akadem. Nank., Moskau-Leningrad, 260 (1961)

93. WAISBREN, B.A. und W.W. SPINK:
A clinical appraisal neomycin
Ann. Intern. Med. 33, 1099-1119 (1950)

94. WAKSMAN, S.A.:
The literature on streptomycin 1944-1952
Rütgers University Press (Brunswick, New Jersey)

95. WAKSMAN, S.A.:
Neomycin
Rütgers University Press (Brunswick, New Jersey) 1953

96. WAKSMAN, S.A., LECHEVALIER, H.A. et al.:
Neomycin, its nature and practical application
Bailliere, Tindall and Care London (1958)

97. WALDEYER, A.:
Anatomie des Menschen
de Gruyter & Co., Berlin 2, 241-251 (1970)

98. WALLRAFF, J.:
Leitfaden der Histologie des Menschen
Verlag Urban und Schwarzenberg München (1967)

99. WALTER, A.M. und L. HEILMEYER:
Antibiotika-Fibel
Antibiotika und Chemotherapie
Thieme Verlag Stuttgart 349-354 (1965)

100. WERSÄLL, J. and A. FLOCK: Suppression and restauration of the microphonics output from the lateral line organ after local application of streptomycin
Life Sci. 3, 1151 (1964)

101. WERSÄLL, J., BJÖRRKROTH, B., FLOCK, A. and P.G. LUNDQUIST:
Experiments on ototoxic effects of antibiotics
Adv. Oto-Rhino-Laryng. Vol. 20, pp 14-41 (1973), Karger,Basel

9. Anhang

Herrn Oberarzt Priv.-Doz. Dr. med. habil. M. Quante und Herrn Oberarzt Priv.-Doz. Dr. med. habil. P. Strauss danke ich für die Überlassung des Themas und ihren Rat bei der Anfertigung der Arbeit.

Für die freundliche Unterstützung bei der Anfertigung der Fotografien danke ich Fräulein O. Bull vom Forschungslabor für Med. Akustik der Universität Düsseldorf.

9.1. Lebenslauf

Am 6.4.1949 wurde ich als zweiter Sohn des prakt. Arztes Dr. Heinz Verfürth und seiner Frau Ilse, geb. Hoeveler, in Holzheim - heute Neuss - geboren.

Nach dem Besuch der Kath. Volksschule in Holzheim und des Staatl. Quirinus-Gymnasiums in Neuss, wo ich am 9.6.1968 die Reifeprüfung ablegte, begann ich meine Ausbildung zum Apotheker als Praktikant in der Sonnen-Apotheke in Neuss.

Nach zwei Jahren Praktikum bestand ich im August 1970 die Prüfung zum Apothekerassistenten. Vom Oktober 1970 bis zum April 1972 studierte ich an der Universität zu Leuven (Belgien) Naturwissenschaften und Sprachen.

Seit dem 15.4.1972 studiere ich an der Universität Düsseldorf Medizin und legte dort am 6.8.1974 die ärztliche Vorprüfung nach alter BO ab.

Am 28.8.1975 bestand ich die erste ärztliche Prüfung nach neuer AO und werde voraussichtlich 1977 und 1978 die zweite und dritte ärztliche Prüfung in Düsseldorf ablegen.